

Title	パーキンソン病モデルに対するATP制御薬の発症緩和効果( Abstract_要旨 )
Author(s)	中野, 将希
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-01-23
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k20821">https://doi.org/10.14989/doctor.k20821</a>
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

(続紙 1 )

京都大学	博士（生命科学）	氏名	中野将希
論文題目	パーキンソン病モデルに対するATP制御薬の発症緩和効果		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>パーキンソン病は、中脳黒質におけるドーパミン神経細胞の脱落（神経細胞死）により、安静時振戦、固縮、無動症、姿勢反射障害を主症状とする神経変性疾患の一つである。神経変性疾患の中で、パーキンソン病はアルツハイマー病に次いで発症率が高く、我が国では 10 万人に約 100 人の割合で発症している。高齢社会において発症数が増加することが予想されるが、未だ明確な発症機構は不明で、予防・治療方法の確立が急務である。</p> <p>パーキンソン病の発症には ATP の産生を主要な機能とするミトコンドリアの機能不全が深く関与することが示唆されていること、加齢と共に低下する代謝（ATP 合成能）が病態を増悪させることが推測できることから、申請者はパーキンソン病の予防には ATP 量を維持することが重要であると考えた。即ち ATP が様々なストレスによって消費され、減少・枯渇することが神経細胞死に関与していると考え、申請者は薬剤誘導性パーキンソン病モデルにおいて、「ATP 産生促進」または「ATP 消費抑制」することにより ATP を維持することで黒質のドーパミン神経細胞死を軽減できるという仮説を立てた。</p> <p>「ATP 産生促進」効果として注目したのが、ミトコンドリア生合成や代謝に関わる核内受容体であるエストロゲン受容体関連受容体（estrogen receptor-related receptors: ERRs）である。当研究室は、以前に ERRs の活性化が ATP 産生を促進する可能性があることを報告している。さらに先行研究にて ERRs のリガンドとなる化合物のスクリーニングの結果、esculetin を見出していた。申請者は、esculetin が代謝（解糖系、ミトコンドリア活性）を活性化させ、「ATP 産生促進」効果を有することを確認した。一方、「ATP 消費抑制」効果を有する化合物として KUSs（Kyoto University Substances）を用いた。以後、これらの化合物を「ATP 制御薬」と呼ぶ。</p> <p>培養細胞のパーキンソン病モデルに ATP 制御薬を加えると細胞内 ATP 量の減少、小胞体ストレス（小胞体ストレス性アポトーシスを誘導する転写因子である C/EBP-homologous protein (CHOP)の発現）、細胞死の全てを抑制した。メチルピルビン酸や ATP の培養液への添加によっても神経細胞内の ATP 量の減少、小胞体ストレス、細胞死が抑制された。さらに 2 種類の薬剤誘導性パーキンソン病モデルマウスで、ATP 制御薬の発症予防効果の検証を行った。パーキンソン病の発症はロタロッドテストによる運動機能により評価した。パーキンソン病モデルマウスでは、運動機能の低下が観察された。さらに、脳切片の免疫染色により中脳黒質のドーパミン神経細胞の減少、残存ドーパミン神経細胞内のパーキンソン病関連タンパク質 <math>\alpha</math> シヌクレインと CHOP の発現誘導を確認した。これらの、非治療の病態マウスで観察された運動機能の低下、ドーパミン神経細胞の脱落、<math>\alpha</math> シヌクレインと CHOP の発現上昇は ATP 制御薬投与により抑制されていた。この時、ATP 制御薬は脳内の ATP 量の低下をも抑制した。</p> <p>以上、本研究によって、ATP制御薬による細胞内のATP量の維持が小胞体ストレスを抑制し、ドーパミン神経細胞を細胞死から抑制することで、パーキンソン病発症を遅延させ得ることを示すことができた。即ち、パーキンソン病の発症予防・病態の進行に対し、ATP量を維持するという新しい治療戦略が有効である可能性が示された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

パーキンソン病は、黒質におけるドーパミン神経細胞の脱落により運動性の障害が生じ、病理学的特徴として $\alpha$ シヌクレインを主要な構成要素とするレビー小体が観察される。現在、パーキンソン病の治療には、ドーパミン補充に焦点を当てた薬剤が使用されているが、パーキンソン病は未だ正確な発症機構が明らかになっておらず、根本的な予防・治療方法が確立されているとは言えない。

パーキンソン病の発症は、様々な異なった遺伝子変異や環境要因によるミトコンドリア障害がドーパミン神経細胞死を引き起こすこと、また加齢と共に低下する代謝(ATP合成能)が病態を増悪させることが推測されることから、申請者はATPに着目し、ATP量低下により細胞機能が低下し、小胞体ストレスが引き起こされ、最終的に神経細胞死が誘導されると考えた。そこで、本論文では、ATPの消費抑制またはATPの産生促進を促す薬剤(ATP制御薬)によるATP量の維持が小胞体ストレスを抑制し神経細胞を保護するかを検証した。

申請者は、まず所属研究室の先行研究でミトコンドリア生合成や代謝に関わる核内受容体であるERRsのリガンドとして見出されたesculetinが、解糖系・ミトコンドリア活性を促進することで細胞内ATP量を増加させることを確認した。次に、NGFでドーパミン神経様細胞に分化させたPC12細胞においてATP制御薬が、ドーパミン神経に細胞死を誘導するMPP+(1-methyl-4-phenylpyridinium)による細胞内ATP量低下と小胞体ストレスを抑制し、細胞保護する作用を持つことを示した。また、ドーパミン神経細胞の初代培養系においても、ATP制御薬は、MPP+によるドーパミン神経細胞死を保護する効果を示した。さらに、申請者はMPTP(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)もしくはRotenoneによる薬剤誘導性パーキンソン病モデルマウス(病態マウス)に対するATP制御薬の発症予防効果を評価した。結果、ロタロッドテストなどの行動実験を用いた検証では、病態マウスへのATP制御薬投与群は非投与群と比較して運動機能低下が顕著に抑制された。さらに、中脳黒質緻密部においてドーパミン神経細胞を免疫染色した結果、病態マウスのATP制御薬投与群は非投与群と比較してドーパミン神経細胞の脱落が抑制されていた。この時、病態マウスの非投与群で確認された中脳におけるATPの低下傾向、残存ドーパミン神経細胞におけるCHOPの発現はATP制御薬投与により抑制された。さらに、パーキンソン病の病理学的特徴である $\alpha$ シヌクレインの蓄積を解析したところ、病態マウス非投与群で観察される $\alpha$ シヌクレインの蓄積がATP制御薬投与により顕著に抑制された。

以上のように本論文は、薬剤誘導性パーキンソン病モデルにおいて、「ATP産生促進」または「ATP消費抑制」作用を有する化合物(ATP制御薬)により細胞内ATP量を維持することで中脳黒質のドーパミン神経細胞死を軽減できるということを初めて示したもので、極めて独創的で新規性の高いものであり、また、論理的かつ一貫性を持って記述されている。従って、本論文は、博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認め、平成29年11月13日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日